



TITLE:

## 第24回 京大癌研究会

AUTHOR(S):

---

CITATION:

第24回 京大癌研究会. 日本外科宝函 1987, 56(4): 453-457

ISSUE DATE:

1987-07-01

URL:

<http://hdl.handle.net/2433/204036>

RIGHT:

## 第24回 京大癌研究会

主題Ⅰ：悪性腫瘍の免疫療法

Ⅱ：自由

日時：昭和62年2月27日（金）午後3時～6時

場所：京大会館 101号室 TEL (751)-8311

### 1) ボーエン病の細胞遺伝学的検討

形成外科 平本 道昭, 一色 信彦  
産婦人科 林 研  
皮膚科 井階 幸一

近年、染色体検査は癌の診断・治療又は予後の判定に重要な役割をはたすと言われるようになってきている。分染法の導入とともに先天性疾患、白血病、悪性腫瘍などにみられる異常染色体の起源が明らかにされて来ている。特に造血系腫瘍については、発癌を制御する機構がいかなる特定の染色体上の遺伝子によって支配されているかを推測する情報が数多く得られている。しかし固形腫瘍に関しては、その核型分析の技術的な困難さおよび種々の複雑な染色体異常の存在などのため十分な研究が未だ行われていないのが現状である。われわれはこのような点をふまえ、ボーエン氏病の皮疹の細胞遺伝学的検討を行った。7例中の5例及びボーエン癌1例に染色体異常をみた。共通の変化としては3例に-5（うち1例にはNo.5のpericentric inversionをおもわせるマーカー染色体が存在）、2例に-11、2例に+9をみた。Oncogeneは5qにFMS、11qにH-RAS1、9qにABLが存在し、さらに5pにはAVRR (antiviral state repression regulator)が存在することは興味深い。なお、全症例の末梢血及び3例の正常とおもわれる皮膚組織では染色体異常は認められなかった。

### 2) オンコジーン Ha-ras をプローブとした癌患者、正常人集団におけるDNA多型性変異(RFLP)の解析

京大第二外科 本田 和男, 稲本 俊  
田中 紘一, 小澤 和恵  
京大放生研センター 石崎 寛治, 池永 満生  
我々は、オンコジーン Ha-ras をプローブとして、

癌患者に頻度の高いDNA多型性変異：RFLP (restriction fragment length polymorphism) を検出した。

（方法）癌患者145例（乳癌97例、大腸直腸癌14例、肝癌13例、胃癌9例、食道癌4例、その他8例）、正常人120例を対象とした。末梢血白血球よりDNAをフェノール抽出し、エンドヌクレアーゼ Msp I 及び Hpa II にてダブルダイジェスションし、アガロース電気泳動後、Ha-ras をプローブとしてサザンハイブリダイゼーションを行った。

（結果）癌患者及び正常人の体細胞DNAは、この方法により明らかな多型性を示した。検出されたDNA断片は両集団を通じて、1.0 kb (75.47%), 2.8 kb (8.68%), 2.3 kb (7.74%), 0.95 kb (5.28%), 0.98 kb (2.64%), 1.6 kb (0.19%) の長さの6種類であり、この分布頻度は米国の報告とは異なっていた。このうち、0.98 kb のDNA断片は、癌患者集団では12例 (4.14%)、正常人集団では2例 (0.89%)、又0.95 kb のDNA断片は、癌患者集団では20例 (6.90%)、正常人集団では8例 (3.33%) に認められ、この2種類のDNA断片は、正常人集団より癌患者集団により多く分布している事が明らかとなった。

### 3) A 431 扁平上皮癌細胞増殖に及ぼすEGF及びTGFβの相反性効果

京大胸部研内1 李 啓充, 久世 文幸

TGFβ (transforming growth factor β) の細胞増殖に及ぼす効果は、細胞の種類・培養条件・共存する他の増殖因子の違いにより、促進と抑制の両極に分かれることが知られている。EGF (epidermal growth factor) リセプターの過剰発現で知られるA 431細胞の増殖に及ぼすEGF、TGFβの効果を検討した所、①単層培養での増殖はEGFにより抑制されTGFβにより促進されたが、②軟寒天中のコロニー形成は

EGF により促進, TGF $\beta$  により抑制され, A 431 細胞の増殖については TGF $\beta$  だけでなく EGF も両作用性に機能することが示された. A 431 細胞の in vivo における増殖は EGF により促進されるとの報告があり, A 431 細胞に対する EGF の in vivo の効果は, 軟寒天培養での効果と相関することが示唆された.

#### 4) ヒト肝癌細胞の増殖機構—培養細胞株における hEGF の産生および受容体の検討

第2内科 長谷 寛二, 平岩 望  
境 祐二, 国立 裕之  
姫野 泰雄, 瀬古 修二  
小東 克次, 福田 善弘  
井村 裕夫

腫瘍細胞の増殖において TGF と共に EGF の関与が注目されている. 今回, 我々は5種のヒト肝癌細胞株, すなわち PLC/PRF/5 (Ax), KH-1, KIM-1, KMCH-1, KYN-1 について, hEGF の産生および, その受容体を検討した. EIA 法により, すべての細胞株培養上清中に hEGF 活性を認めた. さらに  $^{125}\text{I}$ -hEGF による Binding assay の結果, すべての細胞株に EGF 受容体を認めた. これらの細胞株のうち, Ax および KH-1 の hEGF 活性物質は約 7kD で, hEGF とほぼ同じ分子量であることから, hEGF はこれらの肝癌細胞株の増殖において, autocrine 機構の mediator の1つである可能性が示唆された.

#### 5) ヒト肝癌細胞株の酸性糖脂質の発現とそれらを認識する3種のモノクローナル抗体の樹立

京大・医・臨検<sup>1</sup>, 同2内<sup>2</sup>, 同1外<sup>3</sup>

平岩 望<sup>1,2</sup>, 繁田 勝美<sup>1</sup>  
板井 茂行<sup>1,3</sup>, 有井 滋樹<sup>3</sup>,  
神奈木玲児<sup>1</sup>, 福田 善弘<sup>2</sup>,  
井村 裕夫<sup>2</sup>

我々は, 今回, ヒト肝癌細胞株に発現される糖脂質の分析とそれらに対するモノクローナル抗体 (MoAb) 3種を樹立し, 抗原決定基を検討した. スードマウスで増大した PLC/PRF/5 から常法により糖脂質を得た. 抽出酸性糖脂質を Salmonella minnesota に付着させて免疫原とし, 常法に従ってハイブリドーマを得

た. ELISA 及び TLC-immunostaining 法を行い, 抗原物質の性状等の検討を行った. その結果, 得られた3種の MoAb のうち, シアル酸含有糖脂質に対する2種の MoAb (2A3D2, 2D11E2) は, ジシアロ以上のホリシアロ糖脂質に親和性を示した. 残りの1種 (2H6G5) は, 硫酸基を含む酸性糖脂質, 特に Bis-sulfated ganglio-tetraosyl ceramide (SB<sub>1a</sub>) を特異的に認識した. 逆にこれらの MoAb を用いて, 肝癌細胞株には, 他臓器癌細胞株に比して, 硫酸基含有酸性糖脂質や, ポリシアロ糖脂質が多様に発現されている事が示された.

#### 6) CA 19-9, 17-1A, に対するモノクローナル抗体を用いる癌の診断・治療法の開発: 胃癌・大腸癌における癌関連抗原の定量的解析

核医学科 渡辺 祐司, 遠藤 啓吾  
小泉 満, 河村 泰孝  
炭路 敏和, 国松美帆子  
鳥塚 莞爾  
第1外科 大塩 学而, 真辺 忠夫  
戸部 隆吉

ヒト大腸癌細胞で免疫して得られたモノクローナル抗体 17-1A, 19-9 の In-111 標識 F(ab')<sub>2</sub> 分画を消化器癌のシンチグラフィに応用する目的で, 手術摘出ヒト胃癌・大腸癌組織との反応性を調べるとともに, スードマウス移植ヒト大腸癌細胞への抗体の集積性を検討した. 標識モノクローナル抗体を腫瘍イメージングや治療に応用するには癌組織の細胞膜に対応する抗原が多数発現されていることが不可欠である. そこで癌組織の抗原量を定量解析するため, 手術摘出癌組織の膜分画を用いて binding assay にて検討した. 胃癌11例のうち 17-1A は7例 (64%), 19-9 は4例 (36%) に陽性で, 大腸癌17例では 17-1A は全例 (100%) に, 19-9 は9例 (53%) に陽性であった. 17-1A は正常大腸にも80% (8/10) に陽性であったが, 19-9 は正常胃・大腸とは有意な反応は認められなかった.

担癌スードマウスを用いて腫瘍イメージを行ったところ In vitro の結果を反映してすぐれた腫瘍集積性を示したが, 肝・腎にも非特異的な取り込みを認めた.

In-111 標識 17-1A, 19-9 F(ab')<sub>2</sub> 分画は in vitro および動物実験においてすぐれた腫瘍集積性を示し, その臨床応用が期待される.

## 7) 進行腎癌に対する血漿交換療法の経験

泌尿器科 西尾 恭規, 白波瀬敏明  
郭 俊逸, 野々村光生  
飛田 収一, 岡田 裕作  
岡田謙一郎, 吉田 修  
宇多野病院泌尿器科  
細川 進一

多発性骨, リンパ節転移を有する進行期腎癌症例に,  $\alpha$ -IFN を併用した, double filtrating plasmapheresis (DFPP) を施行し, 抗腫瘍効果を検討した. 症例は, 67才, 男性, 1986年5月, 肉眼的血尿, 体重減少, 腰痛を主訴に来院, 左腎癌の診断のもとに6月12日入院, 入院後の諸検査で, 腰椎転移, 左鎖骨上窩, 後腹膜リンパ節転移を認め, 左腎癌 T4N4V2M1 と診断, 腰椎転移巣に放射線療法を施行后, Interleukine-2 単独投与,  $\alpha$ -IFN+UFT の投与を行なうも, PD と判断. 87年1月より  $\alpha$ -IFN  $3 \times 10^6$  unit/day  $\times 5$ /week im, 4週間, DFPP 2/week 計8回の治療を施行した. DFPP の装置として, プラソート1000を用いた. 1回の血漿処理量は約3Lで, 2Lを廃液とし, 同等量の新鮮凍結血漿で置換した. 本療法施行前後で, NK 細胞活性, T 細胞分画でのサプレッサー, ヘルパー細胞, リンパ球幼弱化能, ADCC 活性を指標とした細胞性免疫能を測定したが, 本症例では施行前より細胞性免疫能の低下を示し, 本療法においても, その回復は認められなかった. また, 評価可能病変の測定では, 肝転移が出現し, PD と判定した.

## 8) 教室における肝腫瘍に対する治療方針…2年間170例の肝切除術の経験から

第2外科 森 敬一郎, 山岡 義生  
小林 展章, 嵐原 康行  
安田 和弘, 熊田 馨  
小澤 和恵

肝腫瘍とくに原発性肝癌の治療では, 外科的切除による成績が最も良い. これは, 手術手技の向上のみならず, 肝予備力を考慮して手術適応を選択するようになった点に依るところも大きい. 教室では, 肝予備力の本質的な指標ともいべき血中ケトン体比 (KBR)

を測定することにより, 術前は経口糖負荷試験時に KBR を測定する redox tolerance test を行い手術適応を決定し, 術中は KBR を長時間に亘り低下させない術式を選択し, 手術侵襲の軽減を計り, 術後は KBR に従った術後代謝管理を行う metabolic intensive care を確立しえた. これにより, 最近2年間170例の肝切除術の成績は極めて良好となり, 手術適応の拡大に努めている.

## 9) 当科における肝癌に対する免疫療法

第2内科 瀬古 修二, 国立 裕之  
境 祐二, 平岩 望  
長谷 寛二, 姫野 泰雄  
小東 克次, 福田 善弘  
井村 裕夫

放生研センター 永牟田雅弘, 内田 温士

当科における免疫療法の現況を報告した. 対象は肝切除, TAE 等非適応の進行肝癌でこれらに対し種々の BRM 全身投与, 局所温熱療法 (HT), リピオドール+アドリマイシンの肝動脈注入 (TAI) 等を組み合わせ集学的に治療し, 無治療, BRM 群に比し明らかな延命効果が認められ, 中には腫瘍の著明な退縮を認め, 長期延命を得ている症例が散見された. これら著効例では HT, TAI 等腫瘍 mass を直接減少させる療法と全身の免疫療法との相乗効果が効を奏したものと考えられた. 更に癌局所での免疫反応を増強する目的で全身投与に加えて TAI 時 OK 432 の動注を試みた. これらの症例では TAI のみの対照群に比し, 著明で長く続く発熱, AFP 低下期間の延長が認められた. 現在 TAE 可能例では TAI+OK 432 後 TAE を行った例も含めて Tumor necrosis factor (TNF) 等サイトカイン誘導の有無を検索中であり, これらに HT を併用する治療を考慮中である.

## 10) 動脈塞栓療法, 免疫療法の併用による肝細胞癌の治療

大阪赤十字病院内科

大崎 征夫, 樋口 拓  
高松 正剛, 竹内 孝男  
清水 達夫

京大第2内科 国立 裕之

肝細胞癌に対する動脈塞栓療法 (Trmscatheter

Arterial Embolization, TAE) の免疫学的側面に注目し, OK 432 の併用の有無により各種免疫パラメータの変動, 予後を比較検討し, TAE と免疫療法とを併用することによる治療成績向上の可能性を検討した. 免疫パラメータを経時的に測定したのは TAE 単独群 12例, OK 432 併用群 14例で, 各々 2例, 3例では切除組織における免疫組織学的検討も加えた. (結果)

1. 末梢血リンパ球数は TAE 後明らかに低下し 1ヶ月後に回復したが, OK 432 併用群では有意の変動を示さなかった. T cell, B cell, T cell subsets の変動は軽度であり両群間にも差を認めなかった. 2. ADCC は TAE 後多くは低下し 1ヶ月後に回復する傾向を認めた. NK 活性は 1例を除く 25例で低下しその後回復したが, OK 432 併用群では 1ヶ月後に高値となる傾向を認めた. 3. OK 432 併用群 27例の累積生存率は 1年 70.5%, 2年 52.3% であり, TAE 単独群の 50.0%, 33.0% に比し良好であった.

(結果) 肝細胞癌に対する動脈塞栓療法は宿主の腫瘍に対する免疫防御機構に明らかに影響を与えており, OK 432 の併用はそれを修飾し治療効果を高める上で意義のあるものと思われた.

## 11) 癌所属リンパ節リンパ球を用いた adoptive immunotherapy (AIT) : 基礎と臨床

第1外科 沖野 孝, 菅 典道  
中西 正樹, 佐藤 剛平  
大垣 和久, 児玉 宏  
戸部 隆吉

BALB/c マウスに syngeneic な plasmacytoma MOPC 104 E を前肢 foot pad に移植し, 10日後の腋窩リンパ節を採取: 分離したリンパ球を IL-2, 可溶性腫瘍抗原と共に培養し (OK 432 前投与しておいた悪性腹水貯留部へ移入すると, 相乗的延命効果が得られた. 以上の結果に基き, 切除可能 Stage III, IV の乳癌患者を 2群に randomize し, 1群には OK 432 を術後患側腋窩へ局所投与, 他群には併せて培養腋窩リンパ節リンパ球の経静脈移入を加えた. この結果, 培養細胞の増殖率, K 562 障害活性は対照とした末梢血リンパ球に比してほぼ同等であった. また自己腫瘍障害活性 (ATK) は特に No. 症例において抗原添加により増強されていた. 治療後の末梢血リンパ球, 局所浸潤リンパ球の ATK は共に AIT 併用群でやや高く,

しかも K 562 障害活性を示さない局所浸潤リンパ球の ATK は末梢血リンパ球のそれを上まわっており, 術後術野には腫瘍特異的な population の存在することが示唆された. 以上癌所属リンパ節リンパ球を用いた AIT は術後補助療法として有用であり, 今後共検討を加える予定である. なお, この方法を用いて CR を得た転移性肝癌の一例についても言及した.

## 12) 「悪性脳腫瘍に対する養子免疫療法」

京都大学脳神経外科

宮武 伸一, 菊池 晴彦  
山下 純宏, 徳力 康彦  
奥村 禎三, 西原 毅  
岩崎 孝一

私達は悪性脳腫瘍を対象として局所的養子免疫療法を行っており, その臨床例を中心として報告する. glioblastoma 2例, malignant astrocytoma 3例, astrocytoma grade II 1例の 6例に対して延べ 7回の養子免疫療法を行った. 方法は末梢血より leukapheresis を行い, 比重遠沈法によりリンパ球を精製し, 自己腫瘍細胞と混合培養後 IL-2 を添加した感作リンパ球もしくは, IL-2 のみで LAK 細胞を誘導した. in vitro で, これら抗腫瘍エフェクター細胞は腫瘍細胞に対してキラー活性を示した. 臨床例ではこれらエフェクター細胞を IL-2 と共に患者頭蓋内へ直接投与を行った. これら臨床例のうち 3例に CT スキャン上, 腫瘍体積の減少, また 1例に腫瘍内壊死を認めた. この有効例のうち 2例は他の補助療法をも併用したものであるが, 本法は悪性脳腫瘍に対する有力な補助療法となる可能性が考えられる. 今後更に研究を続けてゆきたい.

## 13) ヒトマクロファージの活性化とヒト白血病細胞破壊作用について

第1内科 笹田 昌孝, 垣田 時雄  
森口 寿徳, 西村 利朗  
久保 明美, 内野 治人

マクロファージの抗腫瘍作用について, 主に実験動物を用いた検討から明らかにされている. しかしヒト腫瘍細胞に対するヒトマクロファージの作用については明らかでない. すでに末梢血単球を in vitro で培養した場合に得られるマクロファージ様細胞について形

態的、また機能的に明らかにしてきた。今回単球由来マクロファージを用いて、白血病患者より分離したヒト白血病細胞に対する破壊作用を  $^{111}\text{In}$  ラベル法により検討した。末処理のマクロファージは白血病細胞に対し何ら破壊作用を示さなかったが、インターフェロン $\gamma$ で活性化するとその程度は軽度ながらも有意な破壊作用を示した。この破壊作用には白血病細胞の種類による差が認められた。また活性化マクロファージの白血病細胞破壊機序にはマクロファージの産生する活性酸素が関与する可能性がうかがわれた。本研究は白血病病型による白血病細胞の差異を明らかにする可能性、さらに、白血病治療への応用の可能性を示すと考えられた。

## 特別講演

### 腫瘍に対する免疫応答

京都大学放射線生物研究センター

内田 温士

生体の腫瘍に対する免疫応答は T 細胞により獲得されかつ担われている獲得免疫 (Adaptive immunity) と NK (ナチュラル・キラー) 細胞, K 細胞, 単球, マクロファージ, 多核白血球や肥胖細胞により行われる自然免疫 (Natural immunity) とに大別される。In vitro の細胞障害反応はこれらのエフェクター細胞による生体の腫瘍に対する免疫防御機構の表現の一つだと考えられており、培養株化腫瘍細胞を標的とした細胞障害試験が広く行われている。しかしながら株化腫瘍細胞に対する反応の結果を解釈するのは困難である。癌患者のリンパ球等のエフェクター細胞の腫瘍に対する免疫抵抗性をよりよく理解するには、自己の分離直後の腫瘍細胞に対する細胞障害活性を調べることが重要である。局所性腫瘍患者では T 細胞あるいは LGL

(large granular lymphocytes) が自己腫瘍細胞障害活性を持つが、転移性癌患者では LGL のみがその活性を示すことが明らかになった。これらの抗腫瘍性に働くエフェクター細胞による標的腫瘍細胞の認識、障害機構についてはいまだ完全に理解されていない。腫瘍に対する免疫応答の発現には腫瘍細胞の腫瘍化に伴う抗原性の変化、低下していないエフェクター細胞機能が必要である。抗原刺激を受け活性化、分化した T 細胞や自然免疫を担うエフェクター細胞は、標的細胞との相互作用や種々の刺激により可溶性因子を放出する。この因子は標的腫瘍細胞に細胞障害性に作用したり、細胞の分裂増殖を抑制する活性を持っている。これらの因子には腫瘍壊死因子 (TNF), リンホトキシン, ナチュラルキラー細胞障害因子, 単球由来細胞障害因子等があり、あるものは純化精製され、分子生物学手法を用い遺伝子組換え型の分子は実際癌患者の治療にも用いられているが、その効果は決定的ではない。腫瘍免疫および免疫療法を考える上で大切なことは、一つの腫瘍細胞が一つ以上のエフェクター機構により認識され障害される事実である。加えて、種々のエフェクター細胞は相互に影響 (負あるいは正の) を与え、統合した結果が発現されることに留意すべきである。即ち BRM (Biological response modifier) であるエフェクター機能を動かそうとする場合、他のエフェクター機構も影響を受ける可能性があることを考慮すべきである。また一つのエフェクター細胞、例えば LGL は自己腫瘍細胞を一方では障害するが、他方 T 細胞が自己腫瘍に反応し、活性化されキラー T 細胞へと分化する段階を抑制する事実がある様に、一つのエフェクター細胞群は相反する作用を有しているかも知れない。個々を解析した後、戻って全体的立場に立ち腫瘍免疫応答を検討していくことが、今後必要であると思われる。